

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory  
Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie  
organismů



**Anna Popelářová**

**Zvyšování odolnosti rostlin vůči suchu metodami primingu: role změn antioxidační kapacity**

**Increasing plant drought resistance by priming methods: the role of antioxidant capacity changes**

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Helena Lipavská, Ph.D.

Konzultanti: RNDr. Petra Mašková, Ph.D., RNDr. Hana Konrádová, Ph.D.

Praha 2019

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 10. 5. 2019

Podpis

#### Poděkování:

Ráda bych poděkovala své školitelce Doc. RNDr. Heleně Lipavské, Ph.D. a konzultantkám RNDr. Petře Maškové, Ph.D. a RNDr. Haně Konrádové, Ph.D. za cenné rady a připomínky při psaní práce. Také bych chtěla poděkovat své rodině a přátelům za morální podporu.

## **Abstrakt**

Při nedostatku vody v půdě je rostlina vystavena stresu, během kterého vznikají reaktivní formy kyslíku (ROS) a dochází k poklesu obsahu vody v pletivech. ROS způsobují oxidativní poškození a rostlina se vůči nim brání pomocí antioxidačních systémů. Udržování obsahu vody v rostlině napomáhá osmotické přizpůsobení. Priming je chápán jako ošetření rostlin vedoucí ke zvyšování odolnosti vůči stresu. Tato práce je zaměřena především na shrnutí informací o primingu ve spojitosti se zlepšením tolerance vůči suchu a s tím spojenými změnami aktivit a množství antioxidačních systémů a osmolytů. Zatím pravděpodobně nejprozkoumanější jsou metody primingu semen, mezi které se řadí hydropriming, osmopriming a priming pomocí elicitorů. Priming ve vegetativní fázi růstu je spojován především s aplikací elicitorů. Transgenerační priming má dopad na potomstvo ošetřených rostlin. Změny navozené primingem jsou druhově specifické a v některých případech mohou v rostlinách přetrvávat i delší dobu.

**Klíčová slova:** reaktivní formy kyslíku, stres, sucho, priming, klíčení, antioxidanty

## **Abstract**

When there is a lack of water in the soil, the plant is subject to stress during which reactive oxygen species (ROS) are formed and the water content in the tissues decreases. ROS cause oxidative damage, which the plant tries to prevent by antioxidation systems action. The osmotic adjustment process ensures water maintenance in the plant. Priming can be thought of as a treatment of plants aimed at increasing stress resistance. This thesis is mainly focused on summarizing information related to priming in connection with drought tolerance improvement and related changes in the activities and amount of antioxidation systems and osmolytes. So far, seed priming methods are probably the most explored, these include hydropriming, osmopriming and priming with elicitors. Priming in the vegetative phase of growth is mainly associated with the application of elicitors. Transgenerational priming has an impact on the progeny of treated plants. Priming-induced changes are species-specific and in some cases may affect the plants for a longer period.

**Key words:** reactive oxygen species, stress, drought, priming, germination, antioxidants

## Obsah

1	Úvod.....	1
2	Vliv sucha na klíčení rostlin a jejich vývoj.....	2
2.1	Hlavní obranné mechanismy proti působení stresu suchem.....	2
2.1.1	Antioxidační systémy.....	2
2.1.2	Osmotické přizpůsobení.....	4
3	Priming.....	4
3.1	Priming semen.....	5
3.1.1	Hydropriming.....	6
3.1.2	Osmopriming.....	8
3.1.3	Priming pomocí elicitorů.....	12
3.1.4	Porovnání metod primingu semen.....	15
3.2	Priming rostlin ve vegetativní fázi růstu.....	16
3.3	Transgenerační priming.....	17
4	Přetrvání změn navozených primingem.....	18
5	Závěr.....	19
	Seznam použité literatury.....	21

## **Seznam použitých zkratek**

ABA – kyselina abscisová

APX – askorbátperoxidáza

AsA – kyselina askorbová

AsA-GSH cyklus – askorbát-glutathionový cyklus

BABA – kyselina  $\beta$ -aminomáselná

CAR – karotenoidy

CAT – kataláza

DHA – dehydroaskorbát

DHAR – dehydroaskorbátreduktáza

GA<sub>3</sub> – kyselina gibberelová

GABA – kyselina  $\gamma$ -aminomáselná

GOX – guajakolperoxidáza

GPX – glutathionperoxidáza

GR – glutathionreduktáza

GSH – redukovaný glutathion

GSSG – oxidovaný glutathion

MDA - malondialdehyd

MDHA – monodehydroaskorbát

MDHAR – monodehydroaskorbátreduktáza

PEG – polyethylenglykol

POD – peroxidáza

PS II – fotosystém II

ROS – reaktivní formy kyslíku

RWC – relativní obsah vody

SA – kyselina salicylová

SOD – superoxiddismutáza

# 1 Úvod

Sucho je jedním z významných abiotických faktorů negativně ovlivňujících růst a vývoj rostlin. V důsledku klimatických změn se sucho projevuje častěji a ve větší intenzitě, s tím rostou i ztráty výnosů zemědělských plodin. Částečným řešením této situace je šlechtění rostlin a vytváření geneticky modifikovaných rostlin, které budou k suchu odolnější. Klasické šlechtění rostlin je staletími prověřená metoda, ale je limitována křížením příbuzných druhů a jedná se o časově náročný proces. Genetické modifikace sice umožňují přenos genů zvyšujících odolnost rostlin k suchu mezi vzdálenými rostlinnými druhy, ale v mnoha zemích je pěstování takových rostlin legislativně omezeno nebo zakázáno. Techniky primingu semen a rostlin mohou být způsobem jak zvýšit odolnost rostlin a vyhnout se časově náročnému šlechtění a legislativním omezením. Odhalení souvisejících mechanismů ukládání rostlinné paměti by pak mohlo pomoci k vylepšení těchto technik.

Rostliny si v průběhu osídlování souše vyvinuly různé mechanismy a strategie vyrovnání se s omezenou dostupností vody. Pro většinu rostlin je příjem vody z půdy zásadní pro růst a pro přežití. Voda tvoří prostředí probíhajících chemických reakcí, přímo se některých reakcí účastní, umožňuje transport látek a udržováním turgoru se podílí na zachování tvaru rostlinných pletiv. Nedostatek vody v půdě způsobuje pokles obsahu vody v rostlině, který může vést až k jejímu úhynu.

Významným problémem je také zasolení půdy způsobené intenzivním zavlažováním. Zasolení půdy omezuje příjem vody rostlinou a zároveň může způsobovat zvyšování koncentrací iontů v rostlině až na hranice toxicity (Munns, 2011). Zvyšování tolerance rostlin k suchu by mohlo vést k redukci zavlažování.

Cílem této práce je shrnout poznatky o metodách primingu, které vedou ke zvyšování odolnosti rostlin vůči suchu modulací antioxidantních mechanismů a akumulací osmolytů a o uchování těchto navozených změn.

## 2 Vliv sucha na klíčení rostlin a jejich vývoj

Při nedostatku vody v půdě se snižuje vodní potenciál půdního roztoku. Čím nižší je vodní potenciál roztoku v půdě, tím hůře je voda přijímána rostlinou. Působení sucha v době klíčení rostlin má za následek snížení procenta vyklíčených rostlin a zpomalení klíčení a růstu sazenic (Amini, 2013; Zhang *et al.*, 2015; Road *et al.*, 2019). V dalších fázích růstu způsobuje sucho snižování relativního obsahu vody (RWC) v rostlině. To vede k poklesu turgoru v pletivech a vadnutí. Pokles turgoru v buňkách zároveň zastavuje růst. Současně je omezen i příjem minerálních živin kvůli narušení transportních procesů. Při snížení obsahu vody v kořenech dochází k akumulaci kyseliny abscisové (ABA), která aktivuje zavírání průduchů v listech. Průduchy se zároveň zavírají při snížení RWC v listech. Zavření průduchů způsobuje redukcí příjmu CO<sub>2</sub>. Snížením dostupnosti CO<sub>2</sub> se snižuje rychlost fotosyntézy, kvůli omezení asimilace uhlíku v Calvinově cyklu se nevytváří dostatek oxidovaného NADP<sup>+</sup>, který funguje jako akceptor elektronů v necyklickém přenosu elektronů primární fáze fotosyntézy. Elektrony pak mohou přecházet na O<sub>2</sub> a vytvářet superoxidový radikál O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, což je jedna z reaktivních forem kyslíku (ROS), která může způsobovat vznik dalších ROS (Karuppanapandian *et al.*, 2011). ROS způsobují peroxidaci lipidů, a tedy i narušení buněčných membrán, které se projevuje únikem elektrolytů a narušením homeostáze buněk. ROS poškozují také proteiny, DNA a další makromolekuly, zároveň inhibují opravné mechanismy fotosystému II (PSII) a syntézu proteinu D1, který je součástí reakčního centra PS II (Bartels and Sunkar, 2005). Narušení elektron-transportního řetězce způsobuje tvorbu dalších ROS jako je peroxid vodíku H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, hydroxylový radikál OH<sup>•</sup> a singletový kyslík <sup>1</sup>O<sub>2</sub>. Možným indikátorem poškození rostlin působením ROS je obsah malondialdehydu (MDA), což je jeden z produktů peroxidace lipidů (Ayala, Muñoz and Argüelles, 2014).

### 2.1 Hlavní obranné mechanismy proti působení stresu suchem

Jak již bylo řečeno, hlavními problémy při působení sucha je snížení obsahu vody v rostlině, s tím spojený pokles turgoru, a dále tvorba ROS, které poškozují buněčné struktury. Rostliny mají obranné mechanismy, které jim umožňují udržování turgoru i při poklesu obsahu vody v půdě a účinné zhášení ROS. Mezi nejdůležitější z těchto mechanismů patří aktivace antioxidačních systémů a akumulace osmolytů a osmoprotektantů.

#### 2.1.1 Antioxidační systémy

Antioxidační systémy zabraňují oxidačním poškozením zhášením ROS. Rozdělujeme je na enzymatické a neenzymatické.



Mezi hlavní neenzymatické antioxidační systémy se řadí kyselina askorbová (AsA), glutathion, karotenoidy (CAR) a prolin. Enzymatické antioxidační systémy jsou například kataláza (CAT), peroxidázy (POD) - askorbátperoxidáza (APX), glutathionperoxidáza (GPX) a guajakolperoxidáza (GOX), superoxiddismutáza (SOD), glutathionreduktáza (GR), monodehydroaskorbátreduktázy (MDHAR) a dehydroaskorbátreduktázy (DHAR).

AsA a glutathion se nacházejí ve většině buněčných kompartmentů. AsA patří mezi nejúčinnější rostlinné antioxidanty, podílí se na zhášení všech výše zmíněných ROS a je substrátem APX. Glutathion se v buňce vyskytuje v redukované (GSH) a oxidované (GSSG) formě, udržuje redoxní rovnováhu v buňce a slouží také k regeneraci redukované formy AsA v askorbát-glutathionovém cyklu (AsA-GSH cyklus). V AsA-GSH cyklu zháší APX peroxid vodíku pomocí AsA, za vzniku vody a monodehydroaskorbátového radikálu (MDHA). MDHA je buď redukován pomocí MDHAR na AsA za oxidace NADH, nebo 2 molekuly MDHA samovolně dismutují na AsA a dehydroaskorbát (DHA). DHA je redukován na AsA pomocí GSH-dependentní DHAR, při čemž vzniká GSSG, který je redukován GR, zároveň dochází k oxidaci NADPH (Noctor and Foyer, 1998; Smirnoff, 2000). Redukce pomocí GR je krok určující rychlost celého cyklu, zvyšování aktivity GR vedoucí k akumulaci GSH má významnou roli v navýšení odolnosti ke stresu (Ahmad, Sarwat and Sharma, 2008).

CAR jsou lipofilní organické sloučeniny, nacházejí se v plastidech a mohou odstraňovat singletový kyslík (Ramel *et al.*, 2012), reagují i s produkty peroxidace lipidů, čímž zabraňují vzniku dalších poškození. Zhášejí také tripletové excitované molekuly chlorofylu, které mohou způsobovat vznik dalších ROS. Přebytková energie pohlcená CAR, je uvolněna disipací na teplo nebo prostřednictvím xantofylového cyklu (Karuppanapandian *et al.*, 2011). Dalším antioxidantem je prolin, aminokyselina, která je, především ve své volné formě, schopná zhášet singletové formy kyslíku a hydroxylové radikály (Matysik *et al.*, 2002).

Klíčovým enzymem v boji s oxidativním stresem je SOD. Podle kofaktorů se rozlišují 3 typy SOD - Fe-SOD (v chloroplastech), Mn-SOD (v mitochondriích) a Cu/Zn-SOD (v chloroplastech, peroxisomech, mitochondriích a cytosolu). Všechny tyto SOD dismutují superoxidový radikál na peroxid vodíku, který je zhášen dalšími enzymy, a kyslík (Ahmad, Sarwat and Sharma, 2008; Karuppanapandian *et al.*, 2011).

Enzym CAT se nachází v peroxisomech a katalyzuje dismutaci peroxidu vodíku na vodu a kyslík. POD slouží hlavně ke zhášení nadbytečného peroxidu vodíku. Mezi konkrétními POD a CAT může probíhat kompetice o tento substrát. APX působí především v chloroplastech a cytosolu, k peroxidu vodíku má vyšší afinitu než CAT a pro jeho zhášení využívá AsA (viz výše). GPX redukuje peroxid vodíku, ale uplatňuje se i v detoxikaci produktů peroxidace lipidů, k oběma procesům potřebuje GSH (Ahmad, Sarwat and Sharma, 2008). GOX je v cytosolu, vakuole, buněčné stěně a v mezibuněčných prostorách, jako donor elektronu pro zhášení peroxidu vodíku využívá především aromatické sloučeniny jako guajakol nebo pyrogallol (Karuppanapandian *et al.*, 2011). Nejefektivnějším mechanismem zhášení peroxidu vodíku je ovšem AsA-GSH cyklus (Akram, Shafiq and Ashraf, 2017).

V rostlinách se vyskytují i další antioxidační systémy. Já zde shrnuji jen ty nejvíce zkoumané v souvislosti v primingem.

### **2.1.2 Osmotické přizpůsobení**

Snižováním vodního potenciálu půdního roztoku se zhoršuje příjem vody rostlinou. Voda putuje do míst, kde je nižší vodní potenciál. V rostlině se proto při stresu suchem akumulují osmoticky aktivní látky, které snižují vodní potenciál v buňkách a usnadňují tak příjem vody. Mezi osmoticky aktivní látky patří anorganické látky, které se hromadí hlavně ve vakuole. Dalšími látkami jsou nízkomolekulární organické látky, mezi které se řadí i specifické látky, označované jako kompatibilní soluty. Kompatibilní soluty se hromadí v buňkách, aniž by narušovaly biochemické reakce, zároveň interagují s proteiny a udržují jejich hydrataci. Patří mezi ně aminokyseliny (například již zmíněný prolin), rozpustné proteiny, glycinbetain, cukry a cukerné alkoholy (Bartels and Sunkar, 2005; Li *et al.*, 2010).

## **3 Priming**

Definice primingu není zcela jednotná. Jako priming se obecně označuje ošetření rostlin před působením stresu, které vede ke zvýšení odolnosti vůči stresu (Conrath *et al.*, 2006). Priming může označovat i první působení stresu, které vede k vyšší odolnosti při opakování stresu. Primingem lze vyvolat zvýšení vnímavosti stresu rostlinou (Wu *et al.*, 2010). Někteří autoři rozlišují priming jako ošetření ke zvýšení odolnosti vůči biotickým stresům a „hardening“ (otužování) jako ošetření před působením abiotických stresů (Bruce *et al.*, 2007). Metody primingu/ hardeningu jsou různé a volí se podle typu stresu, vůči kterému chceme rostlinu

posílit a druhu rostliny. V této práci budu používat pojem priming jen v souvislosti se stresem z nedostatku vody.

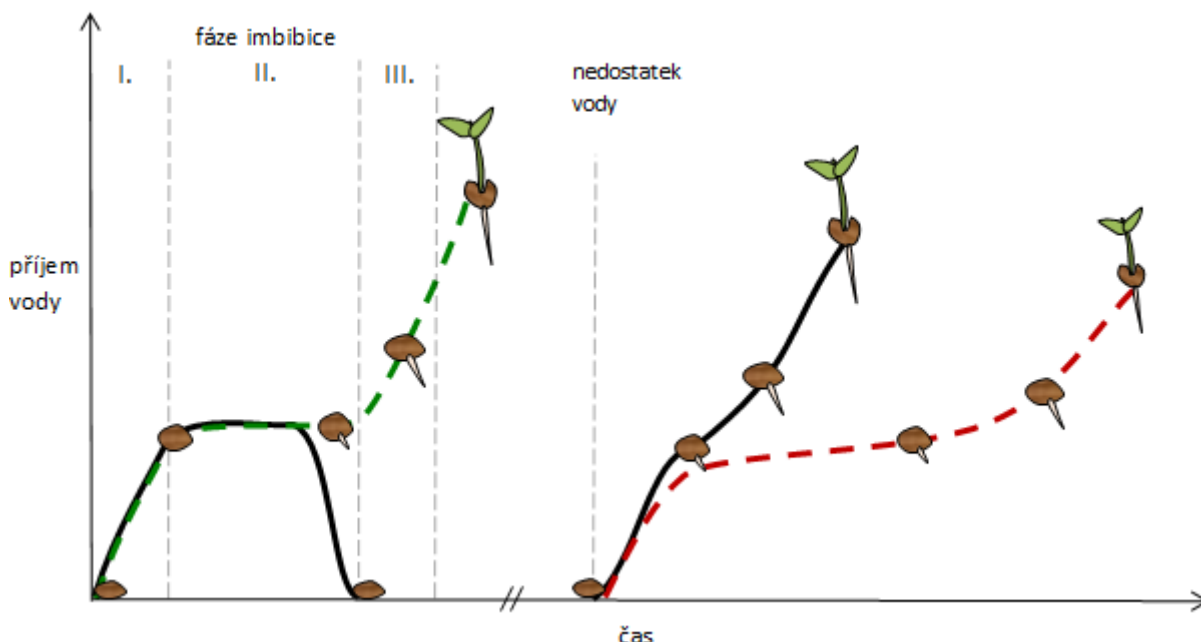
Rostliny lze ošetřit v různých fázích vývoje – semena před klíčením, rostliny ve vegetativní nebo generativní fázi růstu. Ošetření rostlin v generativní fázi se může projevit i u jejich potomstva (Wang *et al.*, 2018). Priming se dá aplikovat na celou rostlinu, nebo její část. Změny navozené primingem mohou být v rostlině uchovány do dalšího působení stresu, kdy se s ním rostlina díky primingu vyrovnává lépe než neošetřené rostliny (Sani *et al.*, 2013; Abid *et al.*, 2018).

### 3.1 Priming semen

Jako priming semen se označuje ošetření semen před vysetím, které vede ke zlepšení růstových vlastností rostlin. Primingem semen lze částečně zvrátit negativní dopad sucha především na klíčení rostlin. Ošetření vede ke zvýšení procenta klíčících rostlin při stresu, klíčení zároveň nastává dříve než u neošetřených rostlin a sazenice lépe rostou (Amini, 2013; Li *et al.*, 2014; Zhang *et al.*, 2015; Samota *et al.*, 2017). Rozlišujeme několik typů primingu. Výchozí metoda je ošetření semen vodou – hydropriming. Přidáváním osmoticky aktivních látek do vody se snižuje osmotický potenciál – osmopriming. Osmopriming se dále dělí podle typu látek přidaných do roztoku. Zvlášť pak řadím priming pomocí elicitorů, u kterého se do roztoku přidávají látky, které interagují s buněčnými receptory v semeni. Pro všechny tyto techniky je společným rysem příjem vody semenem – proces imbibice, který je v určité fázi přerušen vyjmutím semen z roztoku. Poté se semena nechávají vyschnout do původní hmotnosti, především kvůli skladování (Vijayakumari, Jisha and Puthur, 2013).

Klíčení spojené s imbibicí lze rozdělit do 3 fází. V I. fázi dochází k rychlému příjmu vody, ve II. fázi se příjem vody zpomalí, aktivují se metabolické procesy a přibližně v polovině II. fáze začíná vystupovat radikula, ve III. fázi se příjem vody opět zrychluje a buňky radikuly se prodlužují. Až po tomto procesu dochází k růstu dělením buněk. Při primingu je zásadní zastavit imbibici během II. fáze, po aktivaci metabolismu, ale před průnikem radikuly, viz obrázek č. 1. Optimální trvání ošetření je druhově specifické, záleží také na konkrétní metodě primingu. Vhodný moment pro zastavení primingu lze určit pomocí biomarkerů. Biomarkery mohou být strukturní, fyziologické, biochemické nebo molekulární. Molekulární markery stanovené pro konkrétní rostlinný druh by mohly být nejpřesnějšími ukazateli vhodné doby ukončení primingu (Cheng *et al.*, 2017).

Konkrétní procesy probíhající v semeni během imbibice navozené primingem semen se liší v závislosti na způsobu primingu a druhu rostliny (viz níže). Obecně ale dochází během primingu k aktivaci metabolismu v semeni.



Obrázek č. 1: Příjem vody během imbibice a primingu. Přerušovaná zelená čára představuje klíčení za optimálních podmínek. Černá čára představuje průběh primingu a následného klíčení ve stresových podmínkách. Červená přerušovaná čára představuje průběh klíčení ve stresových podmínkách. Volně upraveno dle Wojtyła *et al.* (2016).

### 3.1.1 Hydropriming

Během hydroprimingu dochází k rychlému příjmu vody semenem vlivem velkého rozdílu vodního potenciálu vody (0 MPa) a semene (-50 až -350 MPa). Příliš rychlý příjem vody může způsobit poškození semene. Může dojít k narušení integrity buněk a vyplavování látek ze semen (Woodstock, 1988; Balestrazzi *et al.*, 2011). Hydropriming je účinnou metodou pro zlepšení klíčení a raného růstu rostlin při stresu suchem (Sağlam *et al.*, 2010; Jisha and Puthur, 2018), ale ukazuje se, že technikami osmoprimingu a bioprimingu lze dosáhnout lepších výsledků (Zheng *et al.*, 2015; Hussain, Farooq and Lee, 2017; Tao *et al.*, 2018).

U *Vigna radiata* byly zkoumány změny v aktivitách antioxidačních systémů navozené primingem semen u rostlin rostoucích ve stresových podmínkách mezi kultivarem citlivým k suchu a odolným k suchu. U tolerantního kultivaru stoupl oproti kontrolním rostlinám obsah CAR a prolinu a aktivity GPX a SOD. U citlivého kultivaru stoupl jen obsah CAR, obsah prolinu se snížil, zároveň stoupla jen aktivita SOD, aktivita GPX klesla. Snížení množství prolinu může znamenat menší závislost na akumulaci prolinu při zvyšování tolerance vůči

stresu u daného kultivaru (Jisha and Puthur, 2018). Je ale také možné, že odolný kultivar snáší stres lépe právě díky schopnosti akumulovat prolin. U *Brassica rapa* ssp. *pekinensis* se vlivem primingu při klíčení za nedostatku vody zvyšovala aktivita SOD a CAT, aktivita POD se nezvyšovala (Yan, 2015). U *Cleistogenes songorica* se zvýšila aktivita SOD a aktivity POD a CAT se nelišily oproti kontrolním rostlinám (Tao *et al.*, 2018). U *Oryza sativa* ssp. *indica* se zvýšila při stresu oproti kontrolním rostlinám aktivita SOD, POD i CAT (Zheng *et al.*, 2015). V těchto případech by mohlo být společným znakem zvýšení aktivity SOD.

Odlišně je tomu u *Glycine max*, u které byly zkoumány kultivary lišící se odolností k suchu. Primingem semen se u rostlin při působení stresu u obou kultivarů zvýšila aktivita CAT a množství prolinu, aktivita SOD byla zvýšená jen u kultivaru citlivého a aktivita APX nebyla zvýšená ani u jednoho z kultivarů (Langeroodi and Noora, 2017). Je možné, že aktivita SOD u odolného kultivaru byla pro rostlinu při stresu dostatečná i bez ošetření a její zvyšování by již nemělo další efekt. U tolerantního kultivaru byla oproti citlivému kultivaru vyšší aktivita SOD i v normálních podmínkách. Nejvýraznější rozdíl mezi kultivary byl ovšem v aktivitě dehydrogenázy, která oxidačuje NADH, a zajišťuje tak dostatek redukční síly pro další reakce jako je například fotosyntéza. Vlivem primingu se v normálních podmínkách u obou kultivarů aktivita dehydrogenázy zvýšila na stejnou hodnotu, ale při působení stresu byla u odolného kultivaru dvojnásobně vyšší oproti citlivému (Langeroodi and Noora, 2017).

SOD je zásadní pro zhášení superoxidových radikálů, ze kterých vznikají další ROS. GPX zháší peroxid vodíku, který ale může být zhášen i APX a CAT (Karuppanapandian *et al.*, 2011), jejich role jsou navzájem částečně zastupitelné. Peroxid vodíku má navíc signální funkci a může modulovat aktivitu antioxidantních enzymů (Hossain *et al.*, 2015). SOD by mohla být pro rostlinu důležitější a snížená aktivita GPX by mohla být kompenzována jinými POD. Převládající typ ROS během stresu může být navíc odlišný mezi rostlinnými druhy a podle toho se pak mohou zvyšovat aktivity různých enzymů (Hameed and Iqbal, 2014).

Vlivem hydroprimingu semen tedy dochází u klíčících rostlin při stresu k modulaci aktivit antioxidantních enzymů a akumulace antioxidantů a osmolytů oproti neošetřeným rostlinám. Tyto modulace vedou k menší tvorbě MDA. Účinnost antioxidantních systémů se díky primingu obecně zvyšuje, ale změny aktivit a množství u konkrétních antioxidantních systémů jsou různě intenzivní a u některých může dojít i k poklesu aktivity/množství. Jedná se o proces, který se může lišit mezi druhy i kultivary (Zheng *et al.*, 2015; Langeroodi and Noora, 2017; Jisha and Puthur, 2018).

### 3.1.2 Osmopriming

Osmopriming je většinou účinnější než hydropriming, umožňuje zpomalení příjmu vody semenem díky snížení vodního potenciálu roztoku pomocí osmoticky aktivních látek. Zpomalení příjmu vody může zabránit poškození buněk. Osmopriming by také na rozdíl od hydroprimingu mohl simulovat prostředí nedostatku vody (Wojtyla *et al.*, 2016). To by mohlo vést k aktivaci odpovědi na stres suchem již během osmoprimingu. Při hydroprimingu se pravděpodobně aktivuje metabolismus, což dává ošetřeným semenům během klíčení za stresových podmínek lepší startovní pozici než je u neošetřených semen, které musí aktivovat metabolismus a pak až mohou začít klíčit. Ke zvýšené aktivaci enzymů a akumulaci antioxidantů (SOD, POD, CAT a prolin) a osmolytů (rozpustné proteiny) v semenech po osmoprimingu oproti neošetřeným semenům došlo u *Oryza sativa* ssp. *indica*. K podobnému, ale méně výraznému, efektu došlo i vlivem hydroprimingu (Sun *et al.*, 2010).

Původní metoda osmoprimingu je založena na přidávání osmoticky aktivních látek, které jsou metabolicky inertní, rozpustné ve vodě, stabilní, ale neproniknou do protoplastu. Mezi takové látky patří polyethylenglykol (PEG) s vyšší molární hmotností. Lze použít také soli, ale ionty se mohou dostat do semene a způsobit poškození (Woodstock, 1988).

#### 3.1.2.1 Polyethylenglykol

Priming roztokem obsahujícím PEG zlepšuje klíčení rostlin při nedostatku vody oproti neošetřeným rostlinám. Většinou se používá PEG o molární hmotnosti 6 000 nebo 8 000 (Woodstock, 1988). Vhodná koncentrace PEG v roztoku/ osmotický potenciál a délka primingu jsou druhově specifické.

Aktivace metabolismu v semenech během imbibice je spojena se zvyšováním respirace v mitochondriích a degradací lipidů v glyoxysomech, během těchto procesů se mohou produkovat ROS. V semeni se zároveň aktivují antioxidační mechanismy, aby se zabránilo oxidativním poškozením. U semen *Helianthus annuus* se osmoprimingem pomocí roztoku PEG zvýšila aktivita SOD a CAT, po vysušení ovšem došlo k poklesu aktivit na hodnotu jako u neošetřených semen (Bailly *et al.*, 2000). U semen *Spinacia oleracea* se projevil opačný efekt na tyto enzymy, priming pomocí PEG snížil aktivitu SOD a CAT, následným vysušením se aktivita SOD a CAT zvýšila. U tohoto druhu během primingu zároveň stoupl množství AsA a GSH a zvýšila se aktivita APX, vysušením semen se aktivita ani množství těchto antioxidačních systémů nezměnily (Chen and Arora, 2011). Změny v semeni navozené

osmoprimingem jsou specifické pro jednotlivé druhy i kultivary (Sun *et al.*, 2010) a mohou být ovlivněny i průběhem vysoušení semen po primingu.

Rozdíl je i mezi aktivitou enzymů v primingu ošetřených a vysušených semenech a aktivitou enzymů v rostlinách klíčících za stresových podmínek. U semen *Helianthus annuus* se při imbibici po primingu a vysušení opět zvýšila aktivita SOD a CAT (Bailly *et al.*, 2000). Během klíčení ošetřených semen *Spinacia oleracea* se oproti ošetřeným a vysušeným semenům zvyšovaly aktivita APX a množství AsA a GSH, aktivity SOD a CAT se snižovaly (Chen and Arora, 2011). V semenech *Oryza sativa* ssp. *indica* se po osmoprimingu PEG a vysušení oproti kontrolním semenům zvýšila aktivita SOD, POD a CAT a obsah prolinu a rozpustných proteinů (vztaženo na suchou hmotnost semene). Po 10 dnech růstu při nedostatku vody se oproti aktivitě v semenech snížily aktivita SOD a množství rozpustných proteinů a aktivity POD a CAT se zvýšily. Obsah cukrů a prolinu se lišil v závislosti na kultivaru a intenzitě působení sucha (vztaženo na čerstvou hmotnost prýtu) (Sun *et al.*, 2010).

Rozdíl mezi aktivitami a množstvím antioxidantních systémů v semenech a v rostlinách klíčících v suchu není v rozporu s možností, že se při osmoprimingu v semeni aktivují obranné mechanismy proti suchu. V semenech mohou být jiné optimální hodnoty antioxidantů pro vyrovnání se se stresem a aktivaci klíčení než u 10 dní starých rostlin. Změny v semeni mohou být ovlivněny také vysoušením po osmoprimingu.

Aktivity antioxidantních systémů a množství osmolytů se během klíčení při stresu díky osmoprimingu pomocí PEG o vhodné koncentraci u dalších druhů rostlin zvyšovaly – u *Medicago sativa* (POD, CAT), u *Cleistogenes songorica* (POD, CAT, SOD), u *Oryza sativa* ssp. *indica* (POD, CAT, SOD, cukry) a u *Sorghum bicolor* (POD, CAT, SOD, APX, prolin, volné aminokyseliny, rozpustné proteiny, cukry) (Zhang *et al.*, 2015; Zheng *et al.*, 2015; Mouradi *et al.*, 2016; Tao *et al.*, 2018).

U *Cicer arietinum* se zvýšila aktivita POD, aktivita CAT se u většiny zkoumaných kultivarů nezměnila nebo poklesla oproti kontrolním rostlinám (Khadraji *et al.*, 2017). U *Glycine max* došlo díky osmoprimingu oproti kontrolním rostlinám ke zvýšení aktivity CAT a APX a množství prolinu, aktivita SOD byla zvýšená jen u kultivaru citlivého ke stresu suchem (Langeroodi and Noora, 2017). Vysvětlení může být stejné jako u hydroprimingu, aktivita CAT mohla být nahrazena jinými antioxidantními systémy a u *Glycine max* mohlo dojít k dosažení optimální aktivity SOD u neošetřeného odolného kultivaru.

Změny v modulaci antioxidačních systémů vlivem osmoprimingu roztokem PEG při klíčení během stresu jsou, stejně jako u hydroprimingu, mezi druhy i kultivary specifické. V porovnání s hydroprimingem dochází při použití vhodné koncentrace PEG k menší produkci MDA při klíčení ve stresu. U osmoprimingu navíc dochází ke zvyšování aktivit některých antioxidačních systémů, které se při hydroprimingu nezvýšily (Tao *et al.*, 2018). Nevýhodou je, že u osmoprimingu je kromě určení vhodného trvání nutné určit i vhodnou koncentraci PEG, která se může lišit u různých druhů a kultivarů. V případě použití nevhodné koncentrace může být výsledný efekt horší než při použití hydroprimingu (Sun *et al.*, 2010; Khadraji *et al.*, 2017).

### **3.1.2.2 Další způsoby osmoprimingu**

Z ekonomických důvodů je snaha najít levnější látky pro osmopriming než PEG. Vodní potenciál roztoku lze snížit také přidáním solí, jejichž ionty se ovšem můžou dostat do semene. Jestli do semen proniknou, je ovlivněno především stavbou konkrétního semene (zejména strukturou a propustností osemení). Ne vždy mají ionty, které se do semen z roztoku dostanou, toxický efekt. Některé soli, ve vhodně zvolené koncentraci, mohou semeni poskytnout živiny (Gorzi, Omid and Bostani, 2018). Mezi použitelné soli patří například chlorid sodný, síran zinečnatý, dusičnan draselný, křemičitan sodný, síran železnatý a chlorid vápenatý. Osmopriming pomocí solí je označován také jako halopriming. Další používanou látkou je močovina (Saed-Moocheshi *et al.*, 2014; Yan, 2015).

Chlór patří mezi mikrobiogenní prvky, sodík je pro některé rostliny benefičním prvkem. V půdě je však iontů sodíku a chloru vlivem zavlažování a následného zasolení často nadbytek. Osmopriming chloridem sodným je testován hlavně v souvislosti se zvyšováním odolnosti vůči zasolení, ale může být efektivní i u stresu suchem (Jisha and Puthur, 2014a). U rostlin *Vigna radiata* klíčících při nedostatku vody snížil osmopriming chloridem sodným množství MDA a zvýšil aktivity antioxidačních systémů a množství osmolytů oproti neošetřeným rostlinám. Mezi kultivary byl rozdíl v akumulaci prolinu a sacharidů, u citlivého kultivaru se výrazně zvýšil obsah sacharidů, u kultivarů tolerantních k suchu a zasolení stoupl hlavně obsah prolinu (Jisha and Puthur, 2014a). Tyto rozdíly mohou naznačovat různou závislost kultivarů na hromadění prolinu a sacharidů při zvyšování tolerance k suchu. Rozdíl v hromadění prolinu byl i mezi hydroprimingem a haloprimingem chloridem sodným u *Oryza sativa* (cv. Neeraja, Vaisakh a Vytlla 6). Hydropriming u rostlin při nedostatku vody snížil obsah prolinu oproti kontrolním rostlinám. Halopriming snížil obsah prolinu u kultivaru citlivého ke stresu, u kultivaru tolerantního k suchu se obsah prolinu zvýšil a u kultivaru



tolerantního k zasolení se nezměnil. Obě ošetření vedla ke zvýšení aktivit antioxidantních enzymů a snížení obsahu MDA (Jisha and Puthur, 2014b).

Zinek a železo patří mezi rostlinné mikrobiogenní prvky a v některých půdách je jich nedostatek. V rostlině je zinek složkou některých enzymů, transportních a regulačních proteinů a transkripčních faktorů. Železo slouží k přenosu elektronů v oxidačně redukčních reakcích a je vázané v hemu, který je součástí některých antioxidantních enzymů. Osmoprimingem roztokem obsahujícím zinek nebo železo, případně obojí, je možné rostlině dodat tyto živiny. Při porovnání hydroprimingu a primingu roztokem síranu zinečnatého u *Cicer arietinum* bylo lepšího výsledku při působení sucha dosaženo osmoprimingem. Rostliny lépe rostly a měly vyšší obsah CAR oproti rostlinám ošetřeným hydroprimingem (Road *et al.*, 2019). Zinek zlepšil růst při stresu i u *Nigella sativa*, kde se zvýšil obsah prolinu, rozpustných proteinů a aktivita CAT. Je možné, že lepšího růstu bylo dosaženo díky roli zinku v syntéze enzymů (Fallah, Malekzadeh and Pessarakli, 2018). Aktivitu a množství antioxidantních systémů při klíčení ve stresu zvýšil osmopriming zinkem i u *Stevia rebaudiana*, podobný efekt byl i u osmoprimingu s obsahem železa (Gorzi, Omid and Bostani, 2018).

Dusík a draslík jsou makrobiogenní prvky. Dusík je součástí mnoha organických sloučenin, jako jsou aminokyseliny, proteiny, nukleové kyseliny, fytohormony a další. Draslík se v rostlině nachází ve volné formě, je využíván v regulaci osmotických potenciálů v buňkách. Osmopriming dusičnanem draselným měl pozitivní efekt na klíčení *Oryza sativa* ssp. *indica* za stresových podmínek, snížil se obsah MDA, zvýšily se aktivity CAT, POD a SOD a množství cukrů (Zheng *et al.*, 2015). Podobného výsledku bylo dosaženo i u *Zea mays* (Saed-Moocheshi *et al.*, 2014). U *Glycine max* mělo působení dusičnanu draselného opačný efekt, obsah MDA se při stresu oproti neošetřeným rostlinám zvýšil, aktivita CAT, APX a SOD se snížila, ale zvýšil se obsah prolinu (Langeroodi and Noora, 2017). Je možné, že u *Oryza sativa* ssp. *indica* měl dusičnan draselný jen efekt osmotického působení nebo se ionty dostaly do semene, ale nepůsobily toxicky. U *Glycine max* se pravděpodobně ionty dostaly do semene přes osemení. Tomu by mohl nasvědčovat i zvýšený obsah prolinu, který mohl být způsoben zvýšeným příjmem dusíku z dusičnanu draselného. Na růst *Glycine max* toto ošetření nemělo příznivý efekt (Langeroodi and Noora, 2017).

Křemík je benefičním prvkem, ukládá se v buněčné stěně, má především strukturní funkci. Exogenní aplikace křemíku může mít vliv také na biosyntézu ROS a regulaci obranných

mechanismů jako antioxidačních enzymů a AsA-GSH cyklu (Ma *et al.*, 2016). Osmoprimingem roztokem s křemíkem (ve formě pentahydrátu křemičitanu sodného) se u *Triticum aestivum* při stresu zvýšily aktivity antioxidačních enzymů (Bukhari *et al.*, 2015). U *Zea mays* se díky osmoprimingu s křemíkem (v podobě kyseliny křemičité) zlepšil růst při stresu (Sirisuntornlak *et al.*, 2019).

Vápník se vyskytuje ve volné formě nebo vázaný v buněčné stěně, kde tvoří vápníkové můstky a zlepšuje tak její pevnost, slouží také jako signální molekula. Osmopriming chloridem vápenatým zlepšil růst při nedostatku vody například u *Hordeum vulgare* (Kaczmarek *et al.*, 2017), *Zea mays* (Bismillah Khan *et al.*, 2015), *Triticum aestivum* (Farooq *et al.*, 2017) a *Oryza sativa* (Hussain, Farooq and Lee, 2017).

Účinek osmoprimingu pomocí solí je druhově specifický, obzvláště kvůli rozdílné permeabilitě osemení (Salanenka and Taylor, 2011). V některých případech mohou soli působit jen jako osmoticky aktivní sloučeniny v roztoku a semeno nijak nenarušit, u druhů s permeabilním osemením mohou mít naopak na semeno toxický účinek. Některé soli ve vhodné koncentraci mohou semeni poskytovat živiny, být prospěšné pro růst a zároveň podpořit toleranci vůči suchu. Zároveň ale soli neaktivují obranné mechanismy proti stresu suchem, na rozdíl od elicitorů (viz kapitola 3.1.3). Otázkou je, u kterých druhů se živiny z roztoku do semene dostávají a jestli není zvyšování odolnosti vůči stresu jen výsledek osmoprimingu.

### **3.1.3 Priming pomocí elicitorů**

Některé metody primingu semen využívají exogenní aplikaci látek označovaných jako elicitory. Jedná se o látky, které jsou schopné aktivovat obrannou reakci rostliny (Samota *et al.*, 2017). K takové aktivaci by mohlo docházet i během primingu semen s těmito látkami. Mezi elicitory patří například signální molekuly a růstové regulátory.

#### **3.1.3.1 Kyselina $\beta$ -aminomáselná a $\gamma$ -aminomáselná**

Kyselina aminomáselná je neproteinogenní aminokyselina. V mnoha rostlinách se přirozeně vyskytuje kyselina  $\gamma$ -aminomáselná (GABA), její isomer kyselina  $\beta$ -aminomáselná (BABA) je vyráběna uměle. V rostlinách má GABA různé funkce, hromadí se při působení stresu, může fungovat jako signální molekula, modulovat aktivity enzymů a ovlivňovat růst (Serraj, Shelp and Sinclair, 1998; Barbosa *et al.*, 2010; Li *et al.*, 2016). Ošetření rostlin pomocí BABA je efektivní v obraně proti biotickým i abiotickým stresům (Ahmed *et al.*, 2009; Macarisin *et al.*, 2009; Rajaei and Mohamadi, 2013; Jisha and Puthur, 2016b, 2016a).

Priming pomocí GABA a BABA je testován hlavně v souvislosti s vegetativním primingem (viz kapitola 3.2). Priming semen *Vigna radiata* pomocí BABA zlepšil klíčení za nedostatku vody, došlo ke snížení množství MDA a zvýšení aktivit SOD a POX. Obsahu prolinu se zvýšil u kultivarů odolných k suchu a zasolení a snížil u kultivaru citlivého ke stresu (Jisha and Puthur, 2016a). Ke zlepšení růstu při stresu a zvýšení aktivit antioxidantních systémů došlo také u *Oryza sativa* (Jisha and Puthur, 2016b).

### 3.1.3.2 Kyselina askorbová

AsA je významný zhášec ROS, zároveň má vliv na regulaci vývoje rostlin (Akram, Shafiq and Ashraf, 2017). Priming semen *Triticum aestivum* pomocí AsA vedl ke zvyšování endogenního obsahu AsA a prolinu při stresu oproti hydroprimingu. Obsah MDA se snížil a priming měl pozitivní dopad na růst při stresu (Farooq *et al.*, 2012). Jiná studie vlivu primingu AsA na *Triticum* také prokázala snižování obsahu MDA při stresu oproti hydroprimingu. Navíc se zvýšily aktivity SOD, CAT, APX a GR při stresu u tolerantního kultivaru. U citlivých kultivarů se zvýšila aktivita CAT a APX a u jednoho z nich i SOD. Obsah AsA ve stonku se vlivem primingu zvýšil u všech kultivarů. Nezvýšil se ovšem obsah prolinu (Singh and Bhardwaj, 2016). U *Brassica napus* se vlivem primingu zlepšil růst při stresu, ale zároveň se snížily aktivity CAT a POX oproti neošetřeným rostlinám. Je možné, že je zastoupila AsA, čemuž napovídá i fakt, že priming větší koncentrací AsA vedl k dalšímu snižování aktivit zmíněných enzymů (Razaji, Farzanian and Sayfzadeh, 2014). Zvyšování obsahu AsA v rostlinách může u některých druhů pomoci k lepšímu růstu za stresových podmínek.

### 3.1.3.3 Růstové regulátory

Růstové regulátory se dělí na fytohormony, které se v rostlině přirozeně vyskytují a další látky s regulační aktivitou. Regulátory nelze striktně rozdělovat na stimulující nebo inhibiční, jelikož mohou v různých fázích vývoje a koncentracích působit odlišně. Mezi fytohormony zkoumané pro použití při primingu ke zvýšení odolnosti k suchu patří kyselina salicylová (SA), kyselina gibberelová (GA<sub>3</sub>) a metyljasmonát. Látkou s regulační aktivitou je například spermidin.

Fytohormony jsou organické nízkomolekulární látky, slouží k přenosu informací v rostlině a působí i ve velmi nízkých koncentracích. Rovnováha fytohormonů ovlivňuje růst a vývoj rostliny.

SA zmírňuje poškození při působení biotických i abiotických stresů (Shakirova *et al.*, 2003; Kabiri, Hatami and Naghizadeh, 2014). Priming semen *Foeniculum vulgare* pomocí SA zvýšil obsah prolinu a zlepšil růst při nedostatku vody (Kabiri, Hatami and Naghizadeh, 2014). Zlepšení růstu nastalo i u *Stevia rebaudiana*, u které se zároveň zvýšily aktivity antioxidantních enzymů a množství prolinu (Gorzi, Omid and Bostani, 2018), a u *Triticum aestivum* (Ulfat, Majid and Hameed, 2017).

Metyljasmonát je ester kyseliny jasmonové, účastní se mnoha vývojových a fyziologických procesů v rostlině včetně klíčení. Odolnost k suchu zvýšil například u *Vigna unguiculata*, což bylo doprovázeno snížením obsahu MDA a zvýšením množství prolinu při stresu (Sadeghipour, 2019) a také u *Oryza sativa* (Samota *et al.*, 2017). U *Oryza sativa* byly testovány i další elicitory a to SA a paclobutrazol, obě tyto látky zlepšily růst rostlin při normálních i stresových podmínkách, ale aplikace metyljasmonátu měla signifikantně lepší účinek (Samota *et al.*, 2017).

Gibereliny stimulují klíčení a prodlužovací růst nadzemní části rostliny a indukují kvetení. GA<sub>3</sub> stimuluje syntézu  $\alpha$ -amylázy v semeni, což je jeden z faktorů aktivujících klíčení. U *Glycine max* priming pomocí GA<sub>3</sub> zlepšil klíčení při nedostatku vody zvýšením aktivit antioxidantních enzymů a  $\alpha$ -amylázy a množství prolinu (Langeroodi and Noora, 2017). Podobného efektu bylo dosaženo i u *Brassica napus* (Li *et al.*, 2010) a ke zlepšení růstu došlo i u *Triticum aestivum* (Ulfat, Majid and Hameed, 2017).

Spermidin patří mezi polyaminy. Polyaminy stimulují růst a jejich hladina ve stresových situacích stoupá. Priming semen spermidinem zlepšil růst a zvýšil aktivity antioxidantních enzymů při nedostatku vody u *Trifolium repens* (Li *et al.*, 2014), *Oryza sativa* ssp. *indica* (Zheng *et al.*, 2015). a *Cleistogenes songorica* (Tao *et al.*, 2018).

#### **3.1.3.4 Peroxid vodíku**

Peroxid vodíku je signální molekula, která se účastní velkého množství reakcí souvisejících s růstem a vývojem rostliny a také s obranou vůči stresům (Singh and Bhardwaj, 2016).

Priming semen *Chenopodium quinoa* pomocí peroxidu vodíku kombinovaný s aplikací na listy po klíčení vedl ke snížení endogenního množství peroxidu vodíku a superoxidových anionů a zvýšení aktivit antioxidantních enzymů při stresových podmínkách, zvýšil se i obsah prolinu a cukrů. Došlo také ke snížení koncentrace ABA při nedostatku vody (Iqbal *et al.*, 2018). Zvýšení aktivit antioxidantních systémů a odolnosti vůči nedostatku vody díky

primingu peroxidem vodíku bylo dosaženo i u *Cakile maritima* a *Eutrema salsugineum* (Ellouzi, Sghayar and Abdelly, 2017). U *Triticum aestivum* klesla vlivem primingu semen při stresu oproti kontrolním rostlinám aktivita POD a APX, ale stoupla aktivita CAT a snížilo se množství MDA (Hameed and Iqbal, 2014).

### 3.1.4 Porovnání metod primingu semen

Metody primingu semen vedou ve většině případů ke zlepšení klíčení a růstu za nedostatku vody. V případě osmoprimingu a bioprimingu však musí být zvolena správná koncentrace přidaných látek. Langeroodi a Noora (2017) porovnávali metody hydroprimingu, osmotického primingu pomocí PEG a pomocí solí a hormonálního primingu GA<sub>3</sub> u *Glycine max* při nedostatku vody i v normálních podmínkách. Nejlepších výsledků dosáhli hydroprimingem a hormonálním primingem. Obě tyto metody zvýšily aktivity antioxidantních enzymů a výnos semen u citlivého i odolného kultivaru. V aktivitě antioxidantních systémů a výnosu nebyl mezi metodami výrazný rozdíl. Ve výsledku tedy hodnotí hydropriming jako jednoduchou, ekonomickou a bezpečnou techniku, kterou lze zvýšit výnos *Glycine max* při mírném suchu, nebo normálních podmínkách až o 55% (Langeroodi and Noora, 2017). U *Oryza sativa* ssp. *indica* byl priming spermidinem efektivnější než osmopriming pomocí solí nebo PEG a hydropriming (Zheng *et al.*, 2015). Efektivnější byla aplikace spermidinu oproti osmoprimingu a hydroprimingu i u *Cleistogenes songorica* (Tao *et al.*, 2018). Gorzi, Omid, and Bostani (2018) porovnávali hydropriming, hormonální priming pomocí SA a priming pomocí solí poskytujících živiny – zinek a železo a také kombinace těchto metod u *Stevia rebaudiana*. Nejlepšího výsledku dosáhli kombinací primingu pomocí SA s primingem živinami. Fallah, Malekzadeh, and Pessarakli (2018) hodnotí hormonální priming pomocí GA<sub>3</sub> a osmopriming síranem zinečnatým jako efektivnější než priming dusičnanem draselným a PEG u *Nigella sativa*.

Metody primingu pomocí elicitorů, osmoprimingu nebo kombinace obou mohou mít na klíčení při nedostatku vody lepší efekt než hydropriming. Je ale třeba zvážit, jestli je ekonomicky výhodnější použít metodu hydroprimingu, který nemusí dosahovat tak velkých zlepšení růstových vlastností při stresu, nebo využít metody osmoprimingu či primingu s elicitory, u kterých je nákladnější provedení, ale mohou mít na zlepšení růstových vlastností větší efekt.

### 3.2 Priming rostlin ve vegetativní fázi růstu

Rostlinu lze na stres připravit i ve vegetativní fázi. Roztok s elicitory nebo jinými látkami (PEG, soli) se může aplikovat na listy nebo na kořeny.

Priming ve vegetativní fázi může být navíc účinnější než priming semen. Například při porovnání ošetření *Oryza sativa* roztokem glycinbetainu byla aplikace na listy efektivnější v kompenzaci negativního dopadu sucha na rostliny než priming semen (Farooq *et al.*, 2008). Stejně tak byla aplikace na listy účinnější při ošetření *Oryza sativa* polyaminy (Farooq, Wahid and Lee, 2009) a SA (Farooq, Basra, Wahid, Ahmad, *et al.*, 2009) a *Vigna unguiculata* metyljasmonátem (Sadeghipour, 2019). Ve všech těchto případech vedly obě metody primingu k lepšímu růstu rostlin při stresu i optimálních podmínkách oproti neošetřeným rostlinám. Podobně jako při primingu semen se i při aplikaci na listy zvyšuje účinnost antioxidačních systémů a akumulují se osmoprotektanty (Farooq *et al.*, 2008; Farooq, Basra, Wahid, Ahmad, *et al.*, 2009; Farooq, Wahid and Lee, 2009; Sadeghipour, 2019). Lepší účinek při aplikaci na listy by mohl být kvůli rozdílné prodlevě mezi primingem a působením stresu u obou ošetření nebo kvůli aplikaci v pokročilejším stadiu vývoje.

V případě primingu pomocí BABA může aplikace na listy způsobit tvorbu nekrotických skvrn (Siegrist, Orober and Buchenauer, 2000). Aplikace do půdy/ média, ve kterém rostliny rostou, je lépe snášena a zlepšuje toleranci k suchu (Jakab *et al.*, 2005; Rajaei and Mohamadi, 2013; Sós-Hegedus *et al.*, 2014). Zvyšování tolerance v tomto případě probíhá pravděpodobně díky rychlému zvýšení koncentrace ABA při působení stresu. ABA funguje v signalizaci stresu suchem a může vést k rychlému osmotickému přizpůsobení a udržení obsahu vody pomocí zavírání průduchů (Jakab *et al.*, 2005; Rajaei and Mohamadi, 2013). U *Brassica napus* se zároveň zvýšily aktivity a množství antioxidačních systémů (Rajaei and Mohamadi, 2013). U *Zea mays* poklesla oproti kontrolním rostlinám při suchu aktivita SOD a snížil se obsah prolinu, zvýšila se jen aktivita GR. Zvýšení aktivity GR může souviset s vyšší rychlostí AsA-GSH cyklu. Na rozdíl od výše zmíněných případů se koncentrace ABA oproti kontrolním rostlinám nezměnila, zvýšila se však koncentrace kyseliny jasmonové, která může také mít vliv na regulaci zavírání průduchů (Shaw *et al.*, 2016). BABA může rostlinu připravit na různé typy stresů, pro které má rostlina odlišné obranné mechanismy, v optimálních podmínkách může ovšem růst brzdit (Wu *et al.*, 2010). Negativní dopad může mít také nesprávně zvolená koncentrace BABA (Sós-Hegedus *et al.*, 2014). Rostlinu lze ošetřit také pomocí GABA. Aplikace GABA do růstového média pomohla ke zvýšení odolnosti vůči

suchu u rostlin *Piper nigrum*, u kterých došlo při působení stresu k rychlejší aktivaci a vyšší aktivitě GPX a SOD oproti neošetřeným rostlinám (Vijayakumari and Puthur, 2016).

Kořeny rostliny je možné v rámci primingu vystavit nedostatku vody, buď přerušením poskytnutí vody, nebo umístěním rostlin do média se sníženým osmotickým potenciálem. U *Triticum aestivum* pomohl priming nedostatkem vody během vegetativního růstu ke zmenšení redukce výnosu zrna vlivem stresových podmínek při plnění zrna. Při optimálních podmínkách měl ale priming na plnění zrna negativní efekt (Wang *et al.*, 2015). U *Triticum aestivum* došlo díky vegetativnímu primingu suchem také ke zvýšení aktivity APX a snížení obsahu MDA při stresu během plnění zrna (Wang *et al.*, 2014). Osmopríming pomocí chloridu sodného aplikovaný na kořeny *Arabidopsis thaliana* zvýšil odolnost rostlin při následnému působení nedostatku vody (Sani *et al.*, 2013).

Zásadní rozdíl mezi použitím techniky primingu semen a primingu ve vegetativní fázi, je fakt, že priming semen zvyšuje procento klíčících rostlin a napomáhá ranému růstu sazenic při stresu.

### **3.3 Transgenerační priming**

Transgenerační priming je chápán jako ošetření parentálních rostlin, které vede ke zlepšení odpovědi na stresu u potomstva (Kumar, Kumari and Sharma, 2015). Potomstvo rostlin *Triticum aestivum* vystavených suchu bylo vůči působení sucha odolnější než potomstvo rostlin pěstovaných v kontrolních podmínkách. Potomstvo ošetřených rostlin mělo vyšší aktivity antioxidantních enzymů SOD, CAT, GPX a APX a také vyšší obsah prolinu a GSH. Při působení sucha mělo potomstvo ošetřených rostlin menší oxidativní poškození a vyšší RWC listů oproti kontrolním rostlinám. Při růstu v kontrolních podmínkách nebyl mezi potomstvem ošetřených a kontrolních rostlin rozdíl (Wang *et al.*, 2018). Transgenerační priming lze zkombinovat i s primingem semen a dosáhnout tak dalšího zvýšení odolnosti vůči suchu (Tabassum *et al.*, 2018). Zvýšení odolnosti dceřiných rostlin vůči suchu bylo dosaženo díky transgeneračnímu primingu působením sucha i u *Lupinus angustifolius* (Kalandyk, Waligórski and Dubert, 2017) a u *Hordeum vulgare* (Nosalewicz *et al.*, 2016).

## 4 Přetrvání změn navozených primingem

Modulace antioxidačních systémů navozená primingem semen může být zachována i dále během vývoje. U rostlin ošetřených primingem semen se projevila zvýšená odolnost vůči suchu i při působení stresu až ve stadiu 4 listů (Farooq *et al.*, 2008; Farooq, Basra, Wahid, Ahmad, *et al.*, 2009; Farooq, Wahid and Lee, 2009). U *Sorghum bicolor* se udržela vyšší aktivita antioxidačních systémů APX, CAT, POD a SOD díky primingu semen roztokem PEG i po 3 týdnech růstu v optimálních podmínkách (Zhang *et al.*, 2015). Lepší odolnost vůči stresu díky primingu semen pomocí peroxidu vodíku se ukázal i u *Cakile maritima* a *Eutrema salsugineum*, které byly vystaveny stresu po 4 týdnech růstu v optimálních podmínkách (Ellouzi, Sghayar and Abdelly, 2017). U *Triticum aestivum* ošetřené osmotickým primingem semen došlo k efektivnější odpovědi na stres suchem působící až ve stadiu odnožování a sloupkování rostlin (cca po 5 a 18 týdnech od vysetí). Oproti rostlinám z neošetřených semen měly po 5 i 10 dnech působení stresu rostliny z ošetřených semen vyšší obsah CAR a vyšší aktivitu antioxidačních enzymů APX, CAT a GR. Ošetřené rostliny měly zároveň nižší obsah ROS a menší míru oxidativního poškození (Abid *et al.*, 2018). U rostlin z ošetřených semen *Spinacia oleracea* rostoucích v optimálních podmínkách však aktivita APX, CAT, SOD a množství AsA a GSH po 5 týdnech klesly na hodnoty jako u kontrolních rostlin a při následném nedostatku vody u nich došlo k většímu hromadění MDA. Rozdíl v přetrvání efektu primingu může být druhově specifický (Chen and Arora, 2011).

Při vegetativním primingu aplikovaném na listy byl stres navozen až týden po ošetření a ošetřené rostliny vykazovaly lepší odolnost vůči suchu než neošetřené (Farooq *et al.*, 2008; Farooq, Basra, Wahid, Ahmad, *et al.*, 2009; Farooq, Wahid and Lee, 2009). Ošetření kořenů *Arabidopsis thaliana* osmotickým primingem zlepšilo odolnost vůči suchu působícího po 10 dnech růstu v kontrolních podmínkách, viz obrázek č. 2 (Sani *et al.*, 2013).

Efekt transgeneračního primingu se u potomstva ošetřených rostlin *Triticum aestivum* projevil i v jejich generativní fázi, kdy se zlepšilo plnění zrna při stresu oproti potomstvu neošetřených rostlin (Wang *et al.*, 2018).





Obrázek č. 2: Rozdíl mezi primingem neošetřenými (vlevo) a ošetřenými rostlinami (vpravo) *Arabidopsis thaliana* po 10 dnech růstu v normálních podmínkách a 2 týdnech působení stresu nedostatkem vody. Převzato ze Sani et al. (2013).

Změny navozené primingem mohou nějakou dobu přetrvávat, jedná se ale o druhově specifický proces a je možné, že při růstu v optimálních podmínkách se efekt navozený například primingem semen může postupně vytratit (Chen and Arora, 2011). Rozdíl může být také mezi jednotlivými metodami primingu a efekt může záviset i na fázi růstu, ve které je rostlina primingu vystavena (Wang *et al.*, 2018).

## 5 Závěr

Priming zlepšuje růst rostlin při nedostatku vody především díky modulaci antioxidantních systémů, která se projevuje snížením hromadění MDA. Ošetření může být provedeno mnoha různými způsoby a druhy a kultivary rostlin mohou reagovat na stejná ošetření odlišně. Odlišná je i míra využití jednotlivých antioxidantních systémů během působení sucha. U primingu semen pomocí solí zatím není jasné, pro které druhy jsou jaké látky toxické a jestli se ionty do semene dostávají. Pro metody primingu semen by jistě bylo prospěšné zaměřit se více na zkoumání procesů, které se dějí v semeni během primingu. Ke zlepšení

techniky by také mohlo pomoci objasnění permeability osemení konkrétních druhů a kultivarů rostlin. Během hydroprimingu a osmoprimingu semen dochází k aktivaci metabolismu a často ke zvýšení hladin antioxidantních molekul i aktivit enzymů. Při primingu pomocí elicitorů dochází k interakci elicitorů s receptory v semeni, díky tomu by se mohly aktivovat i další metabolické dráhy, které se hydroprimingem a osmoprimingem neaktivují. Pro účely vegetativního primingu i primingu semen jsou testovány i další látky, kromě výše zmíněných, které by mohly fungovat jako elicitory a podporovat růst při stresu, například brassinosteroidy a oxid dusnatý (Farooq, Basra, Wahid and Rehman, 2009; Farooq, Wahid, *et al.*, 2009). Většina studií se však zaměřuje jen na efekt primingu na růstové vlastnosti rostlin jako je procento klíčících rostlin a tvorba biomasy. Jen část z těchto studií se věnuje procesům probíhajících uvnitř semene/ rostliny. Délkou udržení změn navozených primingem ve vztahu ke zvyšování odolnosti k suchu se zabývá jen velice málo prací, dostupné studie však naznačují, že by se v některých případech mohlo jednat o dlouhodobější účinek. Nelze také opomenout fakt, že na rostlinu často působí více stresů naráz a bylo by tedy výhodné najít metodu, která by mohla rostlinu posílit proti různým typům stresů. Toho by se dalo dosáhnout například vhodnou kombinací více metod nebo využitím BABA, která dokáže rostlinu připravit na různé abiotické i biotické stresy. Priming je jednou z metod, která může významně zlepšit odolnost rostlin vůči suchu a zvýšit výnosy a lze ji aplikovat i na již vyšlechtěné odolné kultivary nebo transgenní rostliny.

## Seznam použité literatury

- Abid, M. *et al.* (2018) 'Seed osmopriming invokes stress memory against post-germinative drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.)', *Environmental and Experimental Botany*, 145, pp. 12–20. doi: 10.1016/j.envexpbot.2017.10.002.
- Ahmad, P., Sarwat, D. and Sharma, S. (2008) 'Reactive oxygen species, antioxidants and signaling in plants', *Journal of Plant Biology*, 51(3), pp. 167–173. doi: 10.1007/BF03030694.
- Ahmed, N. *et al.* (2009) 'Induced systemic resistance in mung bean plant against root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by DL- $\beta$ -amino butyric acid', *Nematologia Mediterranea*, 37(1), pp. 67–72.
- Akram, N. A., Shafiq, F. and Ashraf, M. (2017) 'Ascorbic Acid-A Potential Oxidant Scavenger and Its Role in Plant Development and Abiotic Stress Tolerance', *Frontiers in Plant Science*, 8, p. 613. doi: 10.3389/fpls.2017.00613.
- Amini, R. (2013) 'Drought stress tolerance of barley (*Hordeum vulgare* L.) affected by priming with PEG', *International Journal of Farming and Allied Sciences*, 2(20), pp. 803–808.
- Ayala, A., Muñoz, M. F. and Argüelles, S. (2014) 'Lipid peroxidation: Production, Metabolism, and Signaling Mechanisms of Malondialdehyde and 4-Hydroxy-2-Nonenal', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, p. 360438. doi: 10.1155/2014/360438.
- Bailly, C. *et al.* (2000) 'Antioxidant systems in sunflower (*Helianthus annuus* L.) seeds as affected by priming', *Seed Science Research*, 10, pp. 35–42. doi: 10.1017/S0960258500000040.
- Balestrazzi, A. *et al.* (2011) 'Seed imbibition in *Medicago truncatula* Gaertn.: Expression profiles of DNA repair genes in relation to PEG-mediated stress', *Journal of Plant Physiology*, 168(7), pp. 706–713. doi: 10.1016/j.jplph.2010.10.008.
- Barbosa, J. M. *et al.* (2010) 'Nitrate uptake and utilization is modulated by exogenous  $\gamma$ -aminobutyric acid in *Arabidopsis thaliana* seedlings', *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(6), pp. 443–450. doi: 10.1016/j.plaphy.2010.01.020.
- Bartels, D. and Sunkar, R. (2005) 'Drought and salt tolerance in plants', *Critical Reviews in Plant Sciences*, 24(1), pp. 23–58. doi: 10.1080/07352680590910410.

- Bismillah Khan, M. *et al.* (2015) 'Seed priming with CaCl<sub>2</sub> and ridge planting for improved drought resistance in maize', *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 39, pp. 193–203. doi: 10.3906/tar-1405-39.
- Bruce, T. J. A. *et al.* (2007) 'Stressful "memories" of plants: Evidence and possible mechanisms', *Plant Science*, 173, pp. 603–608. doi: 10.1016/j.plantsci.2007.09.002.
- Bukhari, M. A. *et al.* (2015) 'Improving drought tolerance potential in wheat (*Triticum aestivum* L.) through exogenous silicon supply', *Pakistan Journal of Botany*, 47(5), pp. 1641–1648.
- Chen, K. and Arora, R. (2011) 'Dynamics of the antioxidant system during seed osmopriming, post-priming germination, and seedling establishment in Spinach (*Spinacia oleracea*)', *Plant Science*, 180(2), pp. 212–220. doi: 10.1016/j.plantsci.2010.08.007.
- Cheng, J. *et al.* (2017) 'Identification of genes involved in rice seed priming in the early imbibition stage', *Plant Biology*, 19, pp. 61–69. doi: 10.1111/plb.12438.
- Conrath, U. *et al.* (2006) 'Priming: Getting Ready for Battle', *Molecular Plant-Microbe Interactions*, 19(10), pp. 1062–1071.
- Ellouzi, H., Sghayar, S. and Abdelly, C. (2017) 'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> seed priming improves tolerance to salinity; drought and their combined effect more than mannitol in *Cakile maritima* when compared to *Eutrema salsugineum*', *Journal of Plant Physiology*, 210, pp. 38–50. doi: 10.1016/j.jplph.2016.11.014.
- Fallah, S., Malekzadeh, S. and Pessarakli, M. (2018) 'Seed priming improves seedling emergence and reduces oxidative stress in *Nigella sativa* under soil moisture stress', *Journal of Plant Nutrition*, 41(1), pp. 29–40. doi: 10.1080/01904167.2017.1381719.
- Farooq, M. *et al.* (2008) 'Physiological role of exogenously applied glycinebetaine to improve drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.)', *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194(5), pp. 325–333. doi: 10.1111/j.1439-037X.2008.00323.x.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A. and Rehman, H. (2009) 'Exogenously applied nitric oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.)', *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195(4), pp. 254–261. doi: 10.1111/j.1439-037X.2009.00367.x.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Ahmad, N., *et al.* (2009) 'Improving the drought

tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by exogenous application of salicylic acid', *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195(4), pp. 237–246. doi: 10.1111/j.1439-037X.2009.00365.x.

Farooq, M., Wahid, A., *et al.* (2009) 'Improving water relations and gas exchange with brassinosteroids in rice under drought stress', *Journal of Agronomy and Crop Science*, 195(4), pp. 262–269. doi: 10.1111/j.1439-037X.2009.00368.x.

Farooq, M. *et al.* (2012) 'Seed Priming with Ascorbic Acid Improves Drought Resistance of Wheat', *Journal of Agronomy and Crop Science*, 199(1), pp. 12–22. doi: 10.1111/j.1439-037X.2012.00521.x.

Farooq, M., Wahid, A. and Lee, D. J. (2009) 'Exogenously applied polyamines increase drought tolerance of rice by improving leaf water status, photosynthesis and membrane properties', *Acta Physiologiae Plantarum*, 31(5), pp. 937–945. doi: 10.1007/s11738-009-0307-2.

Farooq, S. *et al.* (2017) 'Osmopriming with CaCl<sub>2</sub> improves wheat (*Triticum aestivum* L.) production under water-limited environments', *Environmental Science and Pollution Research*, 24(15), pp. 13638–13649. doi: 10.1007/s11356-017-8957-x.

Gorzi, A., Omid, H. and Bostani, A. B. (2018) 'Morpho-physiological responses of stevia (*Stevia rebaudiana bertonii*) to various priming treatments under drought stress', *Applied Ecology and Environmental Research*, 16(4), pp. 4753–4771. doi: 10.15666/aeer/1604\_47534771.

Hameed, A. and Iqbal, N. (2014) 'Chemo-priming with Mannose, Mannitol and H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Mitigate Drought Stress in Wheat', *Cereal Research Communications*, 42(3), pp. 450–462. doi: 10.1556/crc.2013.0066.

Hossain, M. A. *et al.* (2015) 'Hydrogen peroxide priming modulates abiotic oxidative stress tolerance: insights from ROS detoxification and scavenging', *Frontiers in Plant Science*, 6, p. 420. doi: 10.3389/fpls.2015.00420.

Hussain, M., Farooq, M. and Lee, D.-J. (2017) 'Evaluating the role of seed priming in improving drought tolerance of pigmented and non-pigmented rice', *Journal of Agronomy and Crop Science*, 203(4), pp. 269–276. doi: 10.1111/jac.12195.

Iqbal, H. *et al.* (2018) 'Hydrogen peroxide application improves quinoa performance by

affecting physiological and biochemical mechanisms under water-deficit conditions', *Journal of Agronomy and Crop Science*, 204(6), pp. 541–553. doi: 10.1111/jac.12284.

Jakab, G. *et al.* (2005) 'Enhancing Arabidopsis Salt and Drought Stress Tolerance by Chemical Priming for Its Abscissic Acid Responses', *Plant Physiology*, 139(1), pp. 267–274. doi: 10.1104/pp.105.065698.various.

Jisha, K. C. and Puthur, J. T. (2014a) 'Halopriming of seeds imparts tolerance to NaCl and PEG induced stress in *Vigna radiata* (L.) Wilczek varieties', *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 20(3), pp. 303–312. doi: 10.1007/s12298-014-0234-6.

Jisha, K. C. and Puthur, J. T. (2014b) 'Seed halopriming outdo hydropriming in enhancing seedling vigor and osmotic stress tolerance potential of rice varieties', *Journal of Crop Science and Biotechnology*, 17(4), pp. 209–219. doi: 10.1007/s12892-014-0077-2.

Jisha, K. C. and Puthur, J. T. (2016a) 'Seed priming with BABA ( $\beta$ -amino butyric acid): a cost-effective method of abiotic stress tolerance in *Vigna radiata* (L.) Wilczek', *Protoplasma*, 253(2), pp. 277–289. doi: 10.1007/s00709-015-0804-7.

Jisha, K. C. and Puthur, J. T. (2016b) 'Seed Priming with Beta-Amino Butyric Acid Improves Abiotic Stress Tolerance in Rice Seedlings', *Rice Science*, 23(5), pp. 242–254. doi: 10.1016/j.rsci.2016.08.002.

Jisha, K. C. and Puthur, J. T. (2018) 'Seed Hydropriming Enhances Osmotic Stress Tolerance Potential in *Vigna radiata*', *Agricultural Research*, 7(2), pp. 145–151. doi: 10.1007/s40003-018-0306-x.

Kabiri, R., Hatami, A. and Naghizadeh, M. (2014) 'Effect of Drought Stress and its Interaction with Salicylic Acid on Fennel (*Foeniculum vulgare* Mill.) Germination and Early Seedling Growth', *Journal of Medicinal Plants and By-products*, 2, pp. 107–116.

Kaczmarek, M. *et al.* (2017) 'CaCl<sub>2</sub> treatment improves drought stress tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.)', *Acta Physiologiae Plantarum*, 39, p. 41. doi: 10.1007/s11738-016-2336-y.

Kalandyk, A., Waligórski, P. and Dubert, F. (2017) 'Role of the maternal effect phenomena in improving water stress tolerance in narrow-leaved lupine (*Lupinus angustifolius*)', *Plant Breeding*, 136(2), pp. 167–173. doi: 10.1111/pbr.12457.

- Karuppanapandian, T. *et al.* (2011) 'Reactive oxygen species in plants: their generation, signal transduction, and scavenging mechanisms', *Australian Journal of Crop Science*, 5(6), pp. 709–725.
- Khadraji, A. *et al.* (2017) 'Growth and antioxidant responses during early growth of winter and spring chickpea (*Cicer arietinum*) under water deficit as affected by osmopriming', *Seed Science and Technology*, 45(1), pp. 198–211.
- Kumar, S., Kumari, R. and Sharma, V. (2015) 'Transgenerational Inheritance in Plants of Acquired Defence Against Biotic and Abiotic Stresses: Implications and Applications', *Agricultural Research*, 4(2), pp. 109–120. doi: 10.1007/s40003-015-0170-x.
- Langeroodi, A. R. S. and Noora, R. (2017) 'Seed priming improves the germination and field performance of soybean under drought stress', *Journal of Animal and Plant Sciences*, 27(5), pp. 1611–1620.
- Li, W. *et al.* (2016) 'Exogenous  $\gamma$ -aminobutyric Acid (GABA) Application Improved Early Growth, Net Photosynthesis, and Associated Physio-Biochemical Events in Maize', *Frontiers in Plant Science*, 7, p. 919. doi: 10.3389/fpls.2016.00919.
- Li, Z. *et al.* (2010) 'Improving drought tolerance of germinating seeds by exogenous application of gibberellic acid (GA3) in rapeseed (*Brassica napus* L.)', *Seed Science and Technology*, 38(2), pp. 432–440. doi: 10.15258/sst.2010.38.2.16.
- Li, Z. *et al.* (2014) 'Exogenous spermidine improves seed germination of white clover under water stress via involvement in starch metabolism, antioxidant defenses and relevant gene expression', *Molecules*, 19(11), pp. 18003–18024. doi: 10.3390/molecules191118003.
- Ma, D. *et al.* (2016) 'Silicon Application Alleviates Drought Stress in Wheat Through Transcriptional Regulation of Multiple Antioxidant Defense Pathways', *Journal of Plant Growth Regulation*, 35(1), pp. 1–10. doi: 10.1007/s00344-015-9500-2.
- Macarisin, D. *et al.* (2009) 'Proteomic analysis of  $\beta$ -aminobutyric acid priming and abscisic acid – induction of drought resistance in crabapple (*Malus pumila*): effect on general metabolism, the phenylpropanoid pathway and cell wall enzymes', *Plant Cell and Environment*, 32(11), pp. 1612–1631. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02025.x.
- Matysik, J. *et al.* (2002) 'Molecular mechanism of quenching of reactive oxygen species by

proline under stress in plants', *Current Science*, 82(5), pp. 525–532.

Mouradi, M. *et al.* (2016) 'Osmopriming improves seeds germination, growth, antioxidant responses and membrane stability during early stage of Moroccan alfalfa populations under water deficit', *Chilean Journal of Agricultural Research*, 76(3), pp. 265–272. doi: 10.4067/S0718-58392016000300002.

Munns, R. (2011) 'Plant Adaptations to Salt and Water Stress : Differences and Commonalities', in *Advances in Botanical Research*. 1st edn, pp. 1–32. doi: 10.1016/B978-0-12-387692-8.00001-1.

Noctor, G. and Foyer, C. H. (1998) 'Ascorbate and Glutathione: Keeping Active Oxygen Under Control', *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, pp. 249–279. doi: 10.1146/annurev.arplant.49.1.249.

Nosalewicz, A. *et al.* (2016) 'Transgenerational effects of temporal drought stress on spring barley morphology and functioning', *Environmental and Experimental Botany*, 131, pp. 120–127. doi: 10.1016/j.envexpbot.2016.07.006.

Rajaei, P. and Mohamadi, N. A. (2013) 'Effect of beta-aminobutyric acid (BABA) on enzymatic and non-enzymatic antioxidants of Brassica napus L. under drought stress', *International Journal of Biosciences*, 3(11), pp. 41–47.

Ramel, F. *et al.* (2012) 'Chemical Quenching of Singlet Oxygen by Carotenoids in Plants', *Plant Physiology*, 158(3), pp. 1267–1278. doi: 10.1104/pp.111.182394.

Razaji, A., Farzanian, M. and Sayfzadeh, S. (2014) 'The effects of seed priming by ascorbic acid on some morphological and biochemical aspects of rapeseed (Brassica napus L.) under drought stress condition', *International Journal of Biosciences*, 4(1), pp. 432–442.

Road, A. K. *et al.* (2019) 'Seed priming with zinc modulate growth, pigments and yield of chickpea (Cicer arietinum L.) under water deficit conditions', *Applied Ecology and Environmental Research*, 17(1), pp. 147–160.

Sadeghipour, O. (2019) 'Drought tolerance of cowpea enhanced by exogenous application of methyl jasmonate', *International Journal of Modern Agriculture*, 7(4), pp. 51–57.

Saed-Moochesi, A. *et al.* (2014) 'Drought and Salt Stress Mitigation by Seed Priming with KNO<sub>3</sub> and Urea in Various Maize Hybrids: An Experimental Approach Based on Enhancing



Antioxidant Responses', *Journal of Plant Nutrition*, 37(5), pp. 674–689. doi: 10.1080/01904167.2013.868477.

Sağlam, S. *et al.* (2010) 'Hydropriming Increases Germination of Lentil (*Lens culinaris* Medik.) under Water Stress', *Notulae Scientia Biologicae*, 2(2), pp. 103–106. doi: 10.15835/nsb224602.

Salanenka, Y. A. and Taylor, A. G. (2011) 'Seedcoat permeability: Uptake and post-germination transport of applied model tracer compounds', *HortScience*, 46(4), pp. 622–626. doi: 10.21273/HORTSCI.46.4.622.

Samota, M. K. *et al.* (2017) 'Elicitor-Induced Biochemical and Molecular Manifestations to Improve Drought Tolerance in Rice (*Oryza sativa* L.) through Seed-Priming', *Frontiers in Plant Science*, 8, p. 934. doi: 10.3389/fpls.2017.00934.

Sani, E. *et al.* (2013) 'Hyperosmotic priming of Arabidopsis seedlings establishes a long-term somatic memory accompanied by specific changes of the epigenome', *Genome Biology*, 14(6), p. R59. doi: 10.1186/gb-2013-14-6-r59.

Serraj, R., Shelp, B. J. and Sinclair, T. R. (1998) 'Accumulation of  $\gamma$ -aminobutyric acid in nodulated soybean in response to drought stress', *Physiologia Plantarum*, 102, pp. 79–86.

Shakirova, F. M. *et al.* (2003) 'Changes in the hormonal status of wheat seedlings induced by salicylic acid and salinity', *Plant Science*, 164(3), pp. 317–322. doi: 10.1016/S0168-9452(02)00415-6.

Shaw, A. K. *et al.* (2016) ' $\beta$ -aminobutyric acid mediated drought stress alleviation in maize (*Zea mays* L.)', *Environmental Science and Pollution Research*, 23(3), pp. 2437–2453. doi: 10.1007/s11356-015-5445-z.

Siegrist, J., Orober, M. and Buchenauer, H. (2000) ' $\beta$ -Aminobutyric acid-mediated enhancement of resistance in tobacco to tobacco mosaic virus depends on the accumulation of salicylic acid', *Physiological and Molecular Plant Pathology*, 56(3), pp. 95–106. doi: 10.1006/pmpp.1999.0255.

Singh, N. and Bhardwaj, R. D. (2016) 'Ascorbic acid alleviates water deficit induced growth inhibition in wheat seedlings by modulating levels of endogenous antioxidants', *Biologia*, 71(4), pp. 402–413. doi: 10.1515/biolog-2016-0050.

- Sirisuntornlak, N. *et al.* (2019) 'Seed priming and soil incorporation with silicon influence growth and yield of maize under water-deficit stress', *Archives of Agronomy and Soil Science*, 65(2), pp. 197–207. doi: 10.1080/03650340.2018.1492713.
- Smirnoff, N. (2000) 'Ascorbic acid: metabolism and functions of a multi-faceted molecule', *Current Opinion in Plant Biology*, 3(3), pp. 229–235. doi: 10.1016/S1369-5266(00)80070-9.
- Sós-Hegedus, A. *et al.* (2014) 'Soil drench treatment with  $\beta$ -aminobutyric acid increases drought tolerance of potato', *PLoS ONE*, 9(12), p. e114297. doi: 10.1371/journal.pone.0114297.
- Sun, Y. Y. *et al.* (2010) 'Effects of Seed Priming on Germination and Seedling Growth Under Water Stress in Rice', *Acta Agronomica Sinica*, 36(11), pp. 1931–1940. doi: 10.1016/S1875-2780(09)60085-7.
- Tabassum, T. *et al.* (2018) 'Terminal drought and seed priming improves drought tolerance in wheat', *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 24(5), pp. 845–856. doi: 10.1007/s12298-018-0547-y.
- Tao, Q. *et al.* (2018) 'Impacts of priming on seed germination and seedling emergence of *Cleistogenes songorica* under drought stress', *Seed Science and Technology*, 46(2), pp. 239–258. doi: 10.15258/sst.2018.46.2.06.
- Ulfat, A., Majid, S. A. and Hameed, A. (2017) 'Hormonal seed priming improves wheat (*Triticum aestivum* L.) field performance under drought and non-stress conditions', *Pakistan Journal of Botany*, 49(4), pp. 1239–1253.
- Vijayakumari, K., Jisha, K. C. and Puthur, J. T. (2013) 'Seed priming for abiotic stress tolerance: an overview', *Acta Physiologiae Plantarum*, 35(5), pp. 1381–1396. doi: 10.1007/s11738-012-1186-5.
- Vijayakumari, K. and Puthur, J. T. (2016) ' $\gamma$ -Aminobutyric acid (GABA) priming enhances the osmotic stress tolerance in *Piper nigrum* Linn. plants subjected to PEG-induced stress', *Plant Growth Regulation*, 78(1), pp. 57–67. doi: 10.1007/s10725-015-0074-6.
- Wang, X. *et al.* (2014) 'Improved tolerance to drought stress after anthesis due to priming before anthesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Vinjett', *Journal of Experimental Botany*, 65(22), pp. 6441–6456. doi: 10.1093/jxb/eru362.

- Wang, X. *et al.* (2015) ‘Drought priming at vegetative growth stages improves tolerance to drought and heat stresses occurring during grain filling in spring wheat’, *Plant Growth Regulation*, 75(3), pp. 677–687. doi: 10.1007/s10725-014-9969-x.
- Wang, X. *et al.* (2018) ‘Parental Drought-Priming Enhances Tolerance to Post-anthesis Drought in Offspring of Wheat’, *Frontiers in Plant Science*, 9, p. 269. doi: 10.3389/fpls.2018.00261.
- Wojtyla, Ł. *et al.* (2016) ‘Molecular processes induced in primed seeds—increasing the potential to stabilize crop yields under drought conditions’, *Journal of Plant Physiology*, 203, pp. 116–126. doi: 10.1016/j.jplph.2016.04.008.
- Woodstock, L. W. (1988) ‘Seed imbibition: a critical period for successful germination’, *Journal of Seed Technology*, 12(1), pp. 1–15.
- Wu, C. C. *et al.* (2010) ‘L-Glutamine inhibits beta-aminobutyric acid-induced stress resistance and priming in Arabidopsis’, *Journal of Experimental Botany*, 61(4), pp. 995–1002. doi: 10.1093/jxb/erp363.
- Yan, M. (2015) ‘Seed priming stimulate germination and early seedling growth of Chinese cabbage under drought stress’, *South African Journal of Botany*, 99, pp. 88–92. doi: 10.1016/j.sajb.2015.03.195.
- Zhang, F. *et al.* (2015) ‘Seed Priming with Polyethylene Glycol Induces Physiological Changes in Sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) Seedlings under Suboptimal Soil Moisture Environments’, *PLoS ONE*, 10(10), p. e0140620. doi: 10.1371/journal.pone.0140620.
- Zheng, M. *et al.* (2015) ‘Seed priming in dry direct-seeded rice: consequences for emergence, seedling growth and associated metabolic events under drought stress’, *Plant Growth Regulation*, 78(2), pp. 167–178. doi: 10.1007/s10725-015-0083-5.